

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
21. Dezember 2000 (21.12.2000)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 00/76528 A2

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: **A61K 38/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/05309**

(22) Internationales Anmeldedatum:
8. Juni 2000 (08.06.2000)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:
199 26 877.0 12. Juni 1999 (12.06.1999) DE
100 24 301.0 17. Mai 2000 (17.05.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von
US): **BITOP GMBH [DE/DE]**; Gebäude A7/1, Stockumer
Strasse 28, D-58453 Witten (DE).

(71) Anmelder und

(72) Erfinder: **BARTH, Stefan [DE/DE]**; Josef-Stelz-
mann-Strasse 9, D-50931 Köln (DE).

(74) Anwälte: **MEYERS, Hans-Wilhelm** usw.; Von Kreisler
Seltling Werner, Postfach 10 22 41, D-50462 Köln (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ,
DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR,
HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR,
LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ,
NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eura-
sisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI,
FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent
(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE,
SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe
der PCT-Gazette verwiesen.



WO 00/76528 A2

(54) Title: **PHARMACEUTICAL PREPARATION**

(54) Bezeichnung: **PHARMAZEUTISCHE ZUBEREITUNG**

(57) Abstract: The invention relates to a pharmaceutical preparation containing at least one protein-containing substance and at least one substance selected from the group consisting of compatible solutions.

(57) Zusammenfassung: Pharmazeutische Zubereitung enthaltend mindestens eine proteinhaltende Substanz und mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute.

Pharmazeutische Zubereitung

Die vorliegende Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zubereitung und deren Verwendung.

EP-A-0 553 884 beschreibt gereinigte Tetrahydropyridin-Derivate und pharmazeutische Zusammensetzungen enthaltend diese Derivate. Sie eignen sich zum Schutz der DNA vor Schäden durch DNA-bindende Wirkstoffe, chemische Karzinogene und Mutagene und Strahlungsschäden.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass kompatible Solute sich zur Effektivitätssteigerung von proteinenthaltenden Substanzen eignen. Gegenstand der Erfindung ist daher eine pharmazeutische Zubereitung enthaltend mindestens eine proteinenthaltende Substanz und mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute.

Zur Stoffgruppe der kompatiblen Solute gehören Zucker und Polyole (z.B. Trehalose, Glycerin, Glycosylglycerin, beta-Mannosylglycerat, beta-Mannosylglyceramid, Di-myo-Inositolphosphat, 1,1-Di-Glycerin-Phosphat, Di-Mannosyl-di-Inositolphosphat, zyklisches 2,3-Diphosphoglycerat), natürliche Aminosäuren (z.B. Alanin, Prolin, Glutamin), Derivate von Aminosäuren (z.B. N-acetylierte Diaminosäuren, N-Acetyl-Lysin, Glutamin-1-Amide, Taurin), Betaine (z.B. Glycin-Betain, Prolin-Betain, Glutamat-Betain, Cholin, Colin-O-Sulfat, Carnitin, Arsenobetain, Crotonobetain, Dimethylsulfonioacetat, Dimethylsulfoniopropionat, Homobetain, Trimethylamin-N-Oxid) und Ectoine (L-Ectoin, S,S- β -Hydroxyectoin).

Bevorzugte Substanzen aus der Gruppe der kompatiblen Solute sind Betaine und Ectoine.

- 2 -

Die proteinenthaltende Substanz wird bevorzugt ausgewählt aus natürlichen, synthetischen oder rekombinanten Polypeptiden, natürlichen, synthetischen oder rekombinanten Proteinen, proteinhaltigen Antigenen, Proteinkonjugaten, proteinhaltigen Zellfragmenten, proteinhaltigen Zellmembranen und ganzen Zellen.

Bevorzugt ist die proteinenthaltende Substanz ein Antikörper, ein Antikörperfragment, ein rekombinanter mono- oder höhervaleuter Antikörper, ein rekombinantes mono- oder höhervaleutes Antikörperfragment, ein bispezifischer Antikörper, ein Diabody oder ein davon abgeleitetes Immuntoxin.

Die erfindungsgemäße pharmazeutische Zubereitung eignet sich insbesondere zur Behandlung von Tumorerkrankungen, Autoimmunerkrankungen, chronischen Entzündungen, Allergien, bakteriellen und viralen Infektionen. Außerdem reduziert sie im Laufe der Behandlung auftretende zytotoxische Aktivitäten, insbesondere das "Vascular Leak Syndrome" (VLS). Bei letzterem führt eine direkte Endothelzellschädigung zu einem Verlust von Albumin aus dem Intrazellularraum in den Extrazellularraum; daraus resultiert eine zunehmende Ansammlung interstitieller Flüssigkeit und folglich eine Gewichtszunahme mit Ausbildung vor allem von Ödemen, Hypotonien und Tachykardien.

Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung von Substanzen ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute zur Effektivitätssteigerung von proteinenthaltenden Substanzen.

Die Wirksamkeit der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zubereitung wird durch das folgende Beispiel näher erläutert:

Einsatz einer pharmazeutischen Zubereitung bestehend aus einem anti-CD30 Immuntoxine und S,S-β-Hydroxyectoin bei SCID-Mäusen mit disseminiert wachsenden humanen L540Cy-Tumoren

1. Methoden

In weibliche, 4 Wochen alte SCID Mäuse wurden 1×10^7 , vom Hodgkin-Lymphom abstammende, L540Cy-Zellen i.v. injiziert. Einen Tag später wurden die Tiere mit dem chemisch-gekoppelten anti-CD30 Immuntoxin Ki-4.dgA (50 µg) ohne und mit 1 M S,S-β-Hydroxyectoin i.v. behandelt; parallel dazu wurden Kontrolltiere mit PBS-Puffer ohne und mit 1 M S,S-β-Hydroxyectoin eingesetzt.

Das verwendete Immuntoxin wird derzeit in einer klinischen Phase I-Studie an der Medizinischen Klinik I an atherapierten und rezidierten Patienten mit Hodgkin-Lymphom eingesetzt. Das unter GMP-Bedingungen verfügbare Immuntoxin wurde mit einer Dosis von 50 µg bei den Mäusen eingesetzt. Als maximal tolerable Dosis wurde mit diesem Immuntoxin in SCID-Mäusen eine Menge von 48 µg dokumentiert.

2. Ergebnisse

Die vorläufigen Ergebnisse dieses Versuches sind als Kaplan-Meier-Darstellung der beigefügten Grafik zu entnehmen. Alle Kontrolltiere entwickelten innerhalb von 35 Tagen disseminiert wachsende Tumoren. Diese Tiere wurden getötet und ihr Tumorbefall dokumentiert: makroskopisch sichtbare Tumoren entwickelten sich in den Lymphknoten, den Nieren, den Eierstöcken, dem Thymus, den Kaumuskeln und im Gehirn.

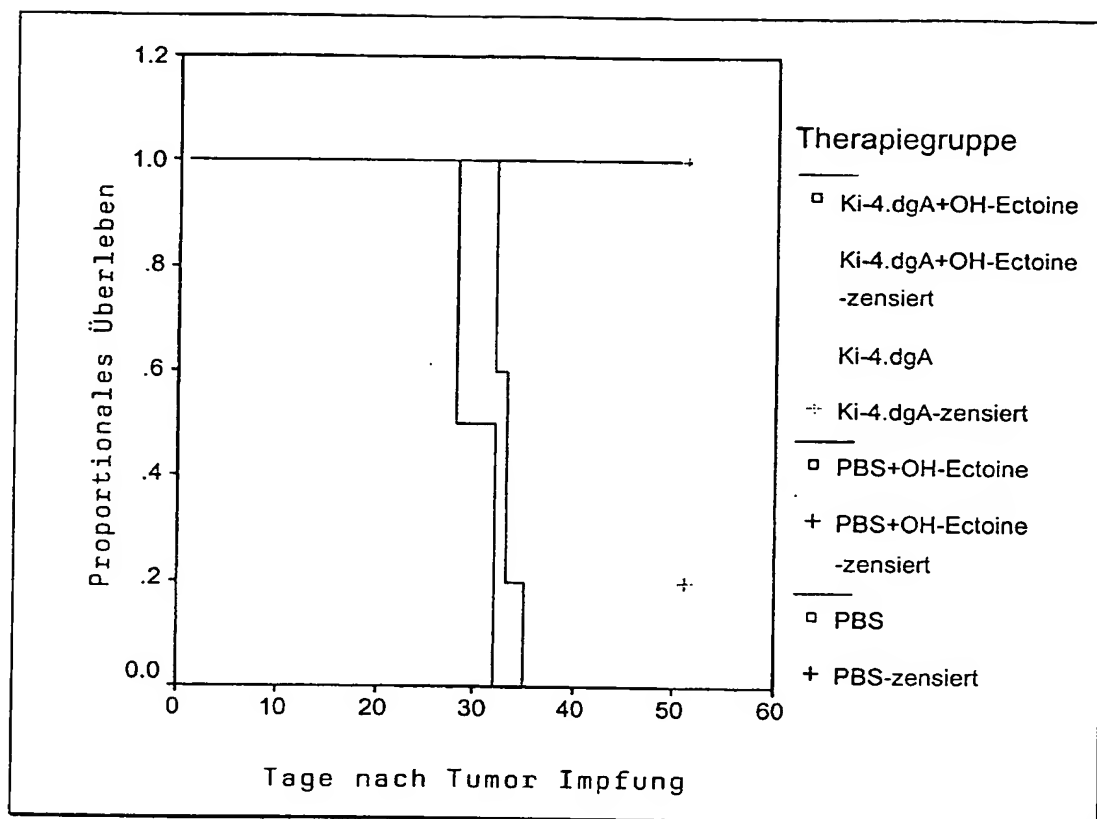
Für die 5 Tiere der PBS-Gruppe ohne und die 2 Tiere der PBS-Gruppe mit S,S-b-Hydroxyectoin wurden nach Kaplan-Meier mittlere Überlebensraten von 33.0 (± 0.55) Tagen und 30.0 (± 2) Tagen berechnet.

Vier der fünf mit Ki-4.dgA behandelten Tiere starben innerhalb eines Tages an der verabreichten Dosis, das fünfte Tier litt zunächst unter starkem Gewichtsverlust (ca. 3 g) und erholte sich aber innerhalb von 5 Tagen. Im Vergleich zu den Kontrolltieren konnte im Beobachtungszeitraum von bislang 51 Tagen kein Anzeichen einer Tumorentwicklung festgestellt werden.

Alle vier mit Ki-4.dgA + S,S-b-Hydroxyectoin behandelten Tiere sind innerhalb des Beobachtungszeitraumes nicht verstorben und zeigen ebenfalls kein Anzeichen einer Tumorentwicklung.

Der Unterschied zwischen den Gruppen PBS ohne oder mit S,S- β -Hydroxyectoin und Ki-4.dgA mit S,S- β -Hydroxyectoin ist statistisch hoch signifikant ($P=0.0046$) und signifikant ($P=0.0177$). Ki-4.dgA ohne und mit S,S- β -Hydroxyectoin unterscheiden sich signifikant ($P=0.0237$). Außerdem zeichnet sich ein tendenzieller Unterschied zwischen den Gruppen PBS ohne und mit S,S- β -Hydroxyectoin ab ($P=0.0715$), der eine schnellere Tumorentwicklung bei S,S- β -Hydroxyectoin-behandelten Tieren anzeigen könnte.

- 5 -



Patentansprüche

1. Pharmazeutische Zubereitung enthaltend mindestens eine proteinenthaltende Substanz und mindestens eine Substanz ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute.
2. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1 dadurch gekennzeichnet, dass die Substanz ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute ein Betain, bevorzugt Glycin-Betain oder in Ectoin, bevorzugt Hydroxyectoin ist.
3. Pharmazeutische Zubereitung nach Anspruch 1 oder 2, wobei die mindestens eine proteinenthaltende Substanz ausgewählt wird aus natürlichen, synthetischen oder rekombinanten Polypeptiden, natürlichen, synthetischen oder rekombinanten Proteinen, proteinhaltigen Antigenen, Proteinkonjugaten, proteinhaltigen Zellfragmenten, proteinhaltigen Zellfragmenten, proteinhaltigen Membranen und ganzen Zellen.
4. Pharmazeutische Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 oder 2, wobei die mindestens eine proteinhaltige Substanz ein Antikörper, ein Antikörperfragment, ein rekombinanter mono- oder höhervalenter Antikörper, ein rekombinantes mono- oder höhervalentes Antikörperfragment, ein bispezifischer Antikörper, ein Diabody oder ein daraus sich ableitendes toxisches Konjugat (Immuntoxin) ist.
5. Verwendung der pharmazeutischen Zubereitung nach einem der Ansprüche 1 bis 4 zur Behandlung von Tumorerkrankungen, Autoimmunerkrankungen, chronischen Entzündungen, Allergien, bakteriellen und viralen Infektionen und dem Vascular Leak Syndrome.
6. Verwendung von Substanzen ausgewählt aus der Gruppe der kompatiblen Solute zur Effektivitätssteigerung von proteinenthaltenden Substanzen.